



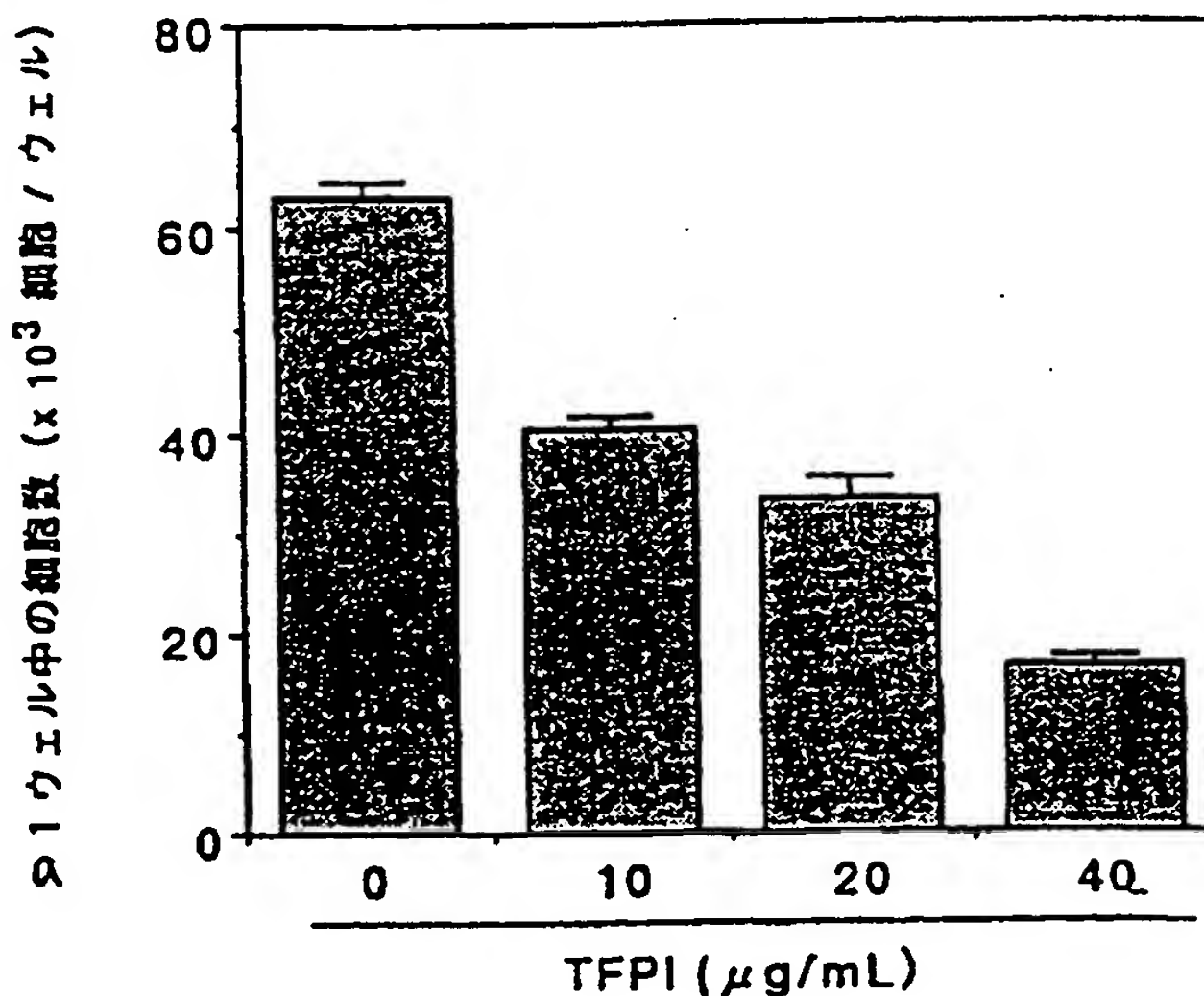
PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類6 A61K 38/55	A1	(11) 国際公開番号 WO97/35609
		(43) 国際公開日 1997年10月2日(02.10.97)
(21) 国際出願番号 PCT/JP97/00973	(22) 国際出願日 1997年3月24日(24.03.97)	(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 財団法人 化学及血清療法研究所 (JURIDICAL FOUNDATION THE CHEMO-SERO-THERAPEUTIC RESEARCH INSTITUTE)[JP/JP] 〒860 熊本県熊本市大窪一丁目6番1号 Kumamoto, (JP)
(30) 優先権データ 特願平8/96176 1996年3月25日(25.03.96)	JP	(74) 代理人 弁理士 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP)
(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 羽室 強(HAMURO, Tsuyoshi)[JP/JP] 〒862 熊本県熊本市龍田町上立田385-6 スカイハイツ三の宮102号 Kumamoto, (JP) 中原 洋(NAKAHARA, Yo)[JP/JP] 〒861-11 熊本県菊池郡西合志町須屋1565 ベルテック須屋II Kumamoto, (JP) 嶺本澄代(TAKEMOTO, Sumiyo)[JP/JP] 〒861-55 熊本県熊本市下硯川町1619-2 硯川ハイツ202号 Kumamoto, (JP)		(81) 指定国 AU, CA, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書

(54) Title: NEOVASCULARIZATION INHIBITOR CONTAINING TISSUE FACTOR PATHWAY INHIBITOR

(54) 発明の名称 組織因子凝固系インヒビター含有血管新生阻害剤



● ... Cell count (x 10³ cells/well)

(57) Abstract

An inhibitor for neovascularization caused by the proliferation of vascular endothelial cells characterized by containing a tissue factor pathway inhibitor (TFPI) as the active ingredient. The TFPI-containing inhibitor can effectively inhibit the neovascularization, so that it can be used for pathological conditions accompanying neovascularization, such as malignant tumor.

(57) 要約

組織因子凝固系インヒビター (TFPI) を有効成分として含有すること
とを特徴とする血管内皮細胞の増殖により惹起される血管新生の阻害剤が
提供される。本発明のTFPI含有阻害剤は、血管内皮細胞の増殖により
惹起される血管新生を効果的に阻害することができ、それゆえ血管新生に
伴う病態である悪性腫瘍などの予防・治療剤として極めて有効である。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を特定するために使用されるコード

AL	アルバニア	EE	エストニア	LR	リベリア	RU	ロシア連邦
AM	アルメニア	ES	スペイン	LS	レソト	RD	ロースデーデン
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LT	リトアニア	SE	スウェーデン
AU	オーストラリア	FR	フランス	LU	ルクセンブルグ	SG	シンガポール
AZ	アゼルバイジャン	GB	ガボン	LV	ラトヴィア	SI	スロベニア共和国
BB	バルバドス	GE	グルジア	MC	モナコ	SK	スロバキア共和国
BE	ベルギー	GH	ガーナ	MD	モルドバ	SN	セネガル
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	SZ	スワジランド
BG	ブルガリア	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラ	TD	チャド
BJ	ベナン	HR	クロアチア	UA	ウクライナ	TG	トーゴ
BR	ブラジル	IE	アイルランド	ML	マリ	TJ	タジキスタン
BY	ベラルーシ	IS	アイスランド	MN	モンゴル	TM	トルクメニスタン
CA	カナダ	IT	イタリア	MR	モーリタニア	TR	トルコ
CF	中央アフリカ共和国	JP	日本	MW	マラウイ	TT	トリニダード・トバゴ
CG	コンゴ	KE	ケニア	MX	メキシコ	UG	ウガンダ
CH	スイス	KR	韓国	NE	ニジェール	US	米国
CI	コート・ジボアール	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン共和国
CM	カメルーン			NO	ノルウェー		

明 細 書

組織因子凝固系インヒビター含有血管新生阻害剤

技術分野

本発明は、組織因子凝固系インヒビター (Tissue Factor Pathway Inhibitor: TFP I) を有効成分として含有する血管内皮細胞の増殖抑制剤及び血管内皮細胞の増殖により惹起される血管新生の阻害剤に関する。特に、本発明は、血管内皮細胞の増殖により惹起される血管新生を効果的に阻害することにより血管新生病を予防又は治療しうる TFP I 含有製剤に関する。

背景技術

血管新生とは、新しい血管、特に毛細血管の成長である。この血管新生は、発育中の胎児および成長過程の生体にとって重要な生理的現象であるが、健康な成人での血管新生は逆に生体にとって病的な作用であることが多い、傷の治癒及び月経サイクルに関してのみ有意義に生じるものである。例えば、悪性腫瘍の場合、血管内皮細胞の増殖及び新しい毛細血管の新生は腫瘍組織の成長に必須のものである。これは腫瘍細胞が血管新生に必要な増殖因子を産生、分泌し、その結果、周囲の血管内皮細胞が刺激され腫瘍に向かって分裂、成長するためであると考えられている。そのため血管新生を阻害することは、悪性腫瘍の成長を抑制するひとつの手段となりうる。

また、悪性腫瘍の治療法として外科的摘出が行われるが、摘出後に腫瘍細胞が患部に残存した場合には再発を引き起こす。さらに、血管新生の進行的な腫瘍組織の外科的摘出術中・術後では、血中に流出する腫瘍細胞が増加することが報告されており [マックロウ (McCulloch, P.) ら、

The Lancet, 346, p 1334 (1995)], これは他の臓器への転移の危険性を示している。このような腫瘍組織の外科的摘出の際に血管新生阻害剤を処置することにより血管新生を抑制することができれば原発巣での再発及び転移した腫瘍細胞の増殖を防止することが可能となり、悪性腫瘍に対する治療法の一手段となりうることが考えられる。

血管新生が原因となる疾患としては悪性腫瘍の成長の他にも様々なものが知られており、例えば、糖尿病性網膜症、水晶体後の繊維増殖、血管新生性緑内障、乾癬、線維性血管腫、免疫及び非免疫性炎症（リュウマチ様関節炎を含む）、アテローム性動脈硬化症フラーク内での毛細血管の増殖、血管腫、カボジ肉腫などの一般に血管新生病（angiogenic diseases）と

総称されているものが挙げられる [フークマン (Folkman, J.) ら、Science, 235, p 442 (1987)]。これら疾患に対しても、同様に血管新生を阻害することによって病態の改善が十分に期待される。

血管新生の機序においては血管内皮細胞の増殖が非常に重要であることが明らかとなってきている。すなわち、血管新生の作用機序として、まずタンパク質分解酵素による既存血管の基底膜の融解が生じ、局所的に破壊された部分から血管内皮細胞が血管外に遊走し、この血管外に遊走した血管内皮細胞が分裂・増殖を繰り返し、次第に血管内皮細胞が分化して管腔を形成した後、管腔間での接合が起こって血管新生に至ると考えられているからである [フークマンら、J. Biol. Chem., 267, p 10931

(1992)]。このような血管新生の促進因子としては、ペプチド性物質である酸性線維芽細胞増殖因子 (acidic Fibroblast Growth Factor: aFGF) 及び塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic Fibroblast Growth Factor: bFGF) が知られており、これらの因子は血管内皮細胞の遊走及び増殖を促進することにより血管新生を惹起する。また近年、血管内皮

細胞に対して特異的な増殖因子である血管内皮細胞増殖因子／血管透過性因子（Vascular Endothelial Growth Factor／Vascular Permeability Factor; VEGF／VPF）が新たな血管新生促進因子として発見されている【フェララ（Ferrara, N.）ら、J. Clin. Invest., 84, p 1470（1989）】。

血管内皮細胞の増殖抑制を示す化合物としては、これまでも幾つかのものが知られている。そのうちの一つにプロタミンがあり、これは精子中にのみ存在する分子量4,300のタンパク質で、塩基性アミノ酸であるアルギニンを豊富に含んでいる。これまでの実験でプロタミンが腫瘍の血管新生を阻害することにより腫瘍の成長を抑制することが見出されており、その機序はヘパリン結合能力に基づくものであることが示されている【テイラー（Taylor, S.）ら、Nature, 297, p 307（1982）】。しかしながら、プロタミンはヒトに対して抗原性を示すため2回目以降の投与時にアナフィラキシー反応を引き起こすことが知られており、この毒性のため頻繁にヒトに用いることは困難である。そのため、血管内皮細胞増殖及び血管新生の阻害剤として有効かつヒトに対して無毒な物質の研究・探索がこれまで行われてきているが、有効な血管新生阻害作用と安全性とを兼ね備えた化合物は未だ見出されていないのが現状である。

図面の簡単な説明

図1はTFPIの添加による血管内皮細胞増殖抑制効果を示す。

図2は全長型TFPI（TFPI＋C）及びC末端領域欠損型TFPI（TFPI－C）の血管内皮細胞増殖抑制効果を示す。

図3は増殖を停止させた血管内皮細胞に対するTFPIの効果を示す。

発明の開示

本発明者らは、血管内皮細胞の増殖及び血管新生を抑制することにより悪性腫瘍をはじめとした種々の血管新生病を予防又は治療しうる薬剤を見出すべく、培養したヒトの血管内皮細胞を用いてその増殖を抑制する作用をもつ物質の検索を行った結果、組織因子凝固系インヒビター（以下、「TFPI」という）に血管内皮細胞の増殖を極めて効果的に抑制する全く新規な作用があることを見だし、この発見に基づいて本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、TFPIを有効成分として含有することを特徴とする血管内皮細胞の増殖抑制剤及び血管内皮細胞の増殖により惹起される血管新生の阻害剤に関するものであり、該薬剤を有効量投与することにより、悪性腫瘍あるいはその他の血管新生病を効果的に予防あるいは治療することができる。ヒトTFPIは、ヒト生体内に本来的に存在するものであるので、これを外部より投与したとしても抗原性を示すことなく、安全に使用することができる。ヒトTFPIと実質的なホモロジーを有する他の哺乳動物由来のTFPIもまた、ヒトTFPIと同様に抗原性を示すことなく、安全に使用することができる。TFPIはまた、病的な新生血管の進行防止のみならず、すでに形成された新生血管に対しても作用してその退縮を促すことができる。

TFPIは、外因系血液凝固反応を阻害する働きを持つことで知られている生体内の糖蛋白質である〔ブローズ (Broze, G. J.)、Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)、84、p 1886 (1987)〕。TFPIは幾つかのドメインから構成され、アミノ末端側から順に、酸性アミノ酸に富む領域（以下、「N末端領域」という）、一般的にクニッツ領域と呼ばれる3つの構造領域（アミノ末端側から順に「クニッツ1」、「クニッツ2」及び「クニッツ3」という）、及びC末端側の塩基性アミノ酸に富む

27アミノ酸からなる領域(以下、「C末端領域」という)からなる。クニッツ1は血液凝固因子の一つである活性化第V11因子と結合してそのプロテアーゼ活性を中和し、クニッツ2はやはり血液凝固因子の一つである活性化第X因子と結合してそのプロテアーゼ活性を中和し、これらの作用により血液凝固反応を初期の段階で効果的に阻害しているものと考えられている。N末端領域に何らかの生理的な作用があるかどうかは知られていないが、C末端領域は陰性荷電を持つグリコサミノグリカン、中でもヘパリンに強く結合することが知られている。ヒトTFPIは276個のアミノ酸からなり、分子量は約42,000である。

TFPIのアミノ酸配列については、ヒト[ウツ(Wun, T.-C.)ら、*J. Biol. Chem.*, 263, p 6001 (1988)]、サル[亀井(Kamei, S.)ら、*J. Biochem.*, 115, p 708 (1994)] (ヒトとホモロジ-は94%)、ウサギ[ベッセルシュミット(Wesselschmidt, R. L.)ら、*Nuc. Acids Res.*, 18, p 6440 (1990) : ウォーナー(Warn-Cramer, B. J.)ら、*Nuc. Acids Res.*, 20, p 3642 (1992)] (ヒトとホモロジ-は72%)、ラット[円城寺(Eijoyoi, K.)ら、*J. Biochem.*, 111, p 681 (1992)] (ヒトとホモロジ-は56%)等が報告されている。

本発明の血管内皮細胞増殖抑制剤及び血管新生阻害剤の有効成分として使用するTFPIは、ヒトその他の哺乳動物の血液あるいは培養細胞から得られる天然のTFPI及び遺伝子組換え技術によって製造されるヒトその他の哺乳動物由来の組換えTFPIのいずれであってもよい。また、血管内皮細胞の増殖抑制及び血管新生の阻害作用を有する限り、血液あるいは培養細胞由来の天然TFPIまたは遺伝子組換え技術によって製造される組換えTFPIと同等の生理学的活性を有し、TFPIのアミノ酸配列

中の1又はそれ以上のアミノ酸が欠失、置換、挿入又は付加された誘導体も本発明に含まれる。特に、以下の実施例にも記載するように、TFPIの構造中のC末端領域の27アミノ酸が完全に欠失したC末端領域欠損型TFPI (TFPI-C) もまた全長型TFPI (TFPI+C) と同様TFPIの有意の血管内皮細胞の増殖抑制作用及び血管新生阻害作用を示すことができる。本発明の血管内皮細胞増殖抑制剤及び血管新生阻害剤はヒトに投与するものである。TFPIもヒト由来のものであるが、免疫応答を回避し、安全性を確保するうえで好ましい。

本発明におけるTFPIの製造方法は特に限定されないが、ヒトその他の哺乳動物の血液あるいは培養細胞からの分離精製、及び遺伝子組換え技術による製造が含まれる。しかしながら、血液からTFPIを分離精製する場合血液中のTFPI含量が非常に少なく(約100ng/mL)、大量に製造することが困難であるため、遺伝子組換え技術によって製造するのが好ましい。

本発明の血管内皮細胞増殖抑制剤及び血管新生阻害剤は、有効成分としてTFPIを含有し、さらに治療目的や実際の適用に応じて薬理学的に許容しうる適当な担体(ゼラチン、ポロキサミンなど)や賦形剤(ヒト血清アルブミン、糖類など)を含有する。具体的な剤型としては、TFPIに公知の適当な賦形剤(ヒト血清アルブミン、糖類など)、安定剤(アミノ酸など)及び緩衝剤(クエン酸など)を混合した乾燥製剤を注射用水を用いて溶解したものか好ましいが、これに限られるものではない。TFPIを保存するに際しては、凍結乾燥法などの方法を用いて乾燥した状態で密封保存しておくのが薬効を最大限に維持するために好ましい。その際、公知の適当

な賦形剤または安定化剤と混合してもよい。

本発明のTFPI含有製剤の投与方法は特に限られないが、例えば、TFPIを適当な滅菌水性媒体中に溶解した液剤を手術中に患部組織内部へ直接投与するか、患部の表面あるいはその周辺へ塗布するか、ボラスもしくは連続的に静動脈内、皮下、皮中、筋肉内へ注入する投与方法などが挙げられ、点眼法も採用できる。また、溶解せずにTFPIの粉末を患部に直接投与する方法も選択できる。さらに、TFPIを発現するべく作られた遺伝子を、適当な遺伝子発現ベクターに組み込んで直接患部の組織に導入し、TFPIを患部で過剰発現させる方法も選択可能である。また、安全性が確認される限り、抗癌剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、糖尿病用剤、抗生物質等の他の薬剤と併用してもよい。

本発明の血管内皮細胞増殖抑制剤及び血管新生阻害剤の有効成分であるTFPIの有効投与量は、投与経路あるいは投与方法等により変わりうるが、新生血管の内部に存在する血液のTFPI濃度が $5\mu\text{g}/\text{ml}$ から $80\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲となるようなものが望ましい。

以下、本発明の理解を深めるために実施例に沿って説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

製造例

TFPIの調製

以下の実施例で使用するTFPIは、亀井ら（特開平7-79774号）や円城寺の報告[Biochem., 34, p5725 (1995)]に記載した方法に従い、ヒトTFPIのcDNAを導入したチャイニーズハムスター卵巣由来細胞株の培養上清から、抗TFPIモノクローナル抗体（HTFPI-K9（微工研菌寄14467号））を結合させたゲルとヘパリンゲル（ファルマシア（Pharmacia-LKB）によるアフィニティークロマト

グラフィーを行って精製した。培養上清中には全長型TFPI (TFPI + C) とC末端領域欠損型TFPI (TFPI - C) が存在するが、ヘパリンゲルによるアフィニティークロマトグラフィーの溶出を塩化ナトリウムの濃度勾配溶出で行うことによって、この両者を分離精製することができる。この方法で得られた全長型TFPI (TFPI + C) 及び全長型TFPIのC末端側27アミノ酸を欠損させたC末端領域欠損型TFPI (TFPI - C) を用いて以下の検討を行った。

実施例 1

全長型TFPIによるヒト血管内皮細胞の増殖抑制効果

内皮細胞はクラボウ社より購入したヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUV EC) を、継代歴3代で使用した。増殖用培地はクラボウ社製E-GM培地 (2%ウシ胎児血清、10 ng/ml ヒト上皮成長因子、1 µg/ml ハイドロコチゾン、0.4%ウシ脳抽出物、10 µg/ml ヘパリン、及び抗菌剤を含む改変MCDB 131培地) を用いた。

E-GM培地に懸濁した内皮細胞を、2,500個/ウェルの細胞密度で48ウェル培養プレート (岩城硝子株式会社製) に播種し、37℃のCO₂インキュベーターにて培養した。播種の2日後、各種濃度 (0、10、20、及び40 µg/ml) の全長型TFPI (TFPI + C) を含むE-GM培地に交換し、以後2日毎に新鮮な同培地にて培地交換しながら培養を継続した。培地量はウェルあたり0.3 mlとした。播種して6日後、プレート上に増殖した細胞を常法に従いトリプシン/EDTA溶液で剥離した後、コールターカウンター (コールター社製) を用いて1ウェルあたりの細胞数を計測した。

図1は各群3ウェルの細胞数の平均値と標準偏差をグラフにして示したものである。TFPIの添加によって濃度依存的に内皮細胞の増殖が有意

(スチューデント t 検定、有効水準 1%) に抑制された。

実施例 2

全長型 T F P I 及び C 末端領域欠損型 T F P I によるヒト血管内皮細胞の増殖抑制効果

全長型 T F P I (T F P I + C) のヘパリン結合領域である C 末端塩基性アミノ酸配列 (27 アミノ酸) が欠如した C 末端領域欠損型 T F P I (T F P I - C) の内皮細胞増殖抑制効果を検討した。

増殖培地である E - G M 培地に懸濁した内皮細胞を、2,500 個/ウェルの細胞密度で 48 ウェル培養プレートに播種し、37℃の CO₂ インキュベーターにて培養した。播種の 2 日後、各種濃度 (0、5、10、20、40、及び 80 µg/ml) の全長型 T F P I (T F P I + C)、または同濃度の C 末端領域欠損型 T F P I (T F P I - C) を含む E - G M 培地に交換し、以後 2 日毎に新鮮な同培地にて培地交換しながら培養を継続した。培地量はウェルあたり 0.3 ml とした。播種して 6 日後、プレート上に増殖した細胞をトリプシン/EDTA 溶液で剥離した後、コールターカウンターを用いて 1 ウェルあたりの細胞数を計測した。

図 2 は全長型 T F P I (T F P I + C) 添加群及び C 末端領域欠損型 T F P I (T F P I - C) 添加群の細胞数の平均値と標準偏差をグラフにして示したものである (1 群 4 ウェルにて実施)。その結果、どちらのタイプの T F P I も濃度依存的に内皮細胞の増殖を有意 (スチューデント t 検定、有効水準 1%) に抑制することが判明し、T F P I は全長型でなくとも内皮細胞の増殖を抑制しうることが示された。

実施例 3

増殖を停止させた血管内皮細胞に対する T F P I の効果

血管内皮細胞を、増殖因子を含まない培地 (クラボウ社製基礎培地 Hu

Media-E Bに2%ウシ胎児血清および抗菌剤を添加したもの)で培養し、細胞増殖が生じない条件下でのTFPIの効果を検討した。

増殖因子を含まない培地に懸濁した内皮細胞を、10,000個/ウェルの細胞密度で48ウェル培養プレートに播種し、37℃のCO₂インキュベーターにて培養した。播種の2日後、各種濃度(0、5、10、20、40、及び80 μ g/ml)の全長型TFPI(TFPI+C)、又は同濃度のC末端領域欠損型TFPI(TFPI-C)を含む同培地に交換し、さらに2日培養した後、プレート上に接着している細胞をトリプシン/EDTA溶液で剥離した後、コールターカウンターを用いて1ウェルあたりの細胞数を計測した。

図3にTFPIの濃度とプレート上の細胞数との関係を示した。各群4ウェルにて実施しており、細胞数はその平均値と標準偏差を表している。その結果、どちらのタイプのTFPIも濃度依存的に細胞数を有意(スチューデントt検定、有効水準1%)に減少させた。

この結果から、TFPIは内皮細胞の増殖抑制作用に加えて、増殖が停止した内皮細胞に対してもその機能を阻害することが判明した。すなわち、TFPIは病的な新生血管の進行防止のみならず、既に形成された新生血管に対しても作用してその退縮を促す可能性が示された。

請 求 の 範 囲

1. 組織因子凝固系インヒビターを有効成分として含有することを特徴とする血管内皮細胞の増殖抑制剤。
2. 組織因子凝固系インヒビターを有効成分として含有することを特徴とする血管内皮細胞の増殖により惹起される血管新生の阻害剤。
3. 血管内皮細胞の増殖により惹起される血管新生病を予防または治療するための請求項2に記載の阻害剤。
4. 当該血管新生病が、悪性腫瘍、糖尿病性網膜症、水晶体後の繊維増殖、血管新生性緑内障、乾癬、線維性血管腫、リウマチ様関節などの免疫性及び非免疫性炎症、アテローム性動脈硬化症プラーク内での毛細血管の増殖、血管腫、又はカポジ肉腫である請求項2又は3に記載の阻害剤。

図 1

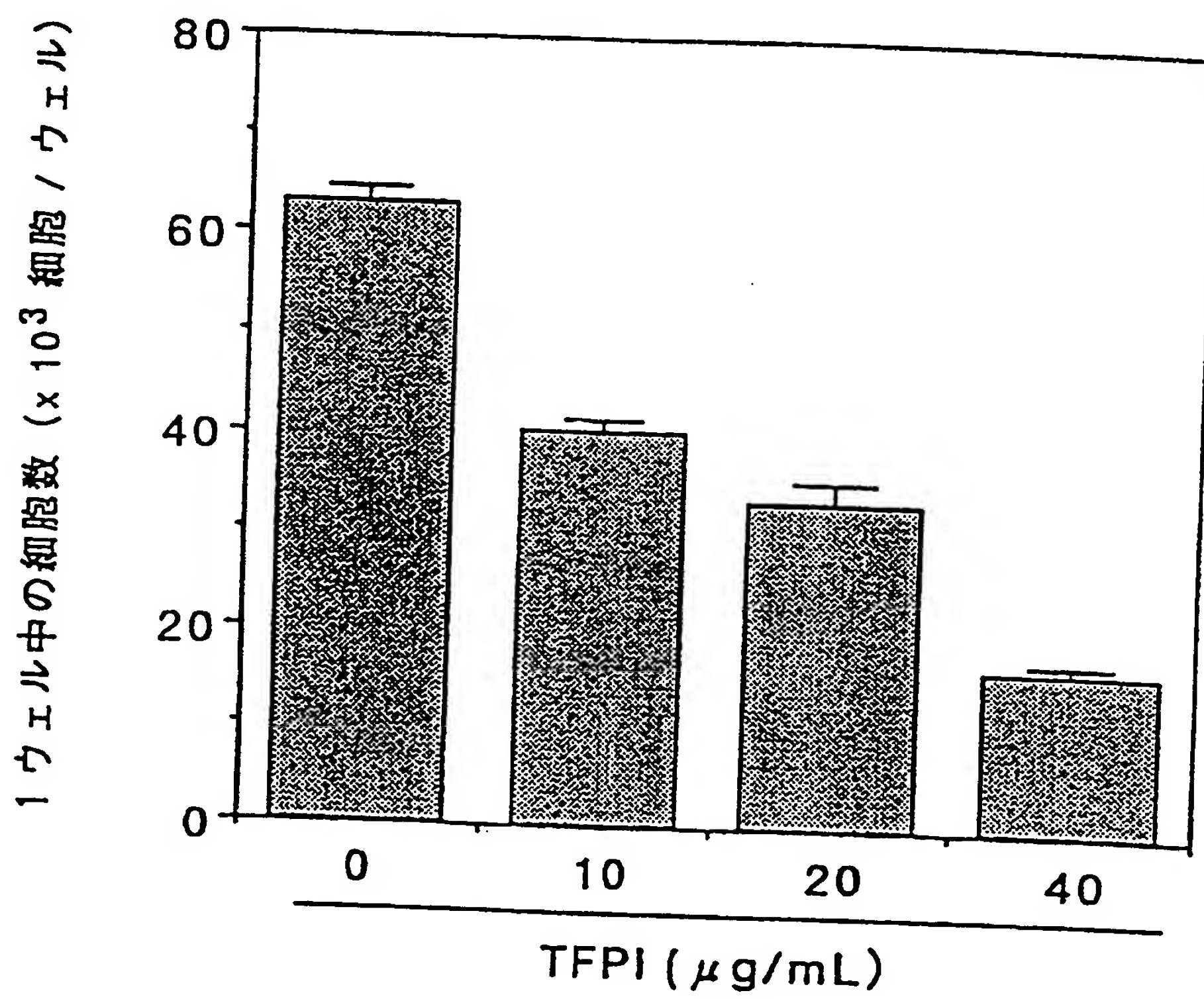


図 2

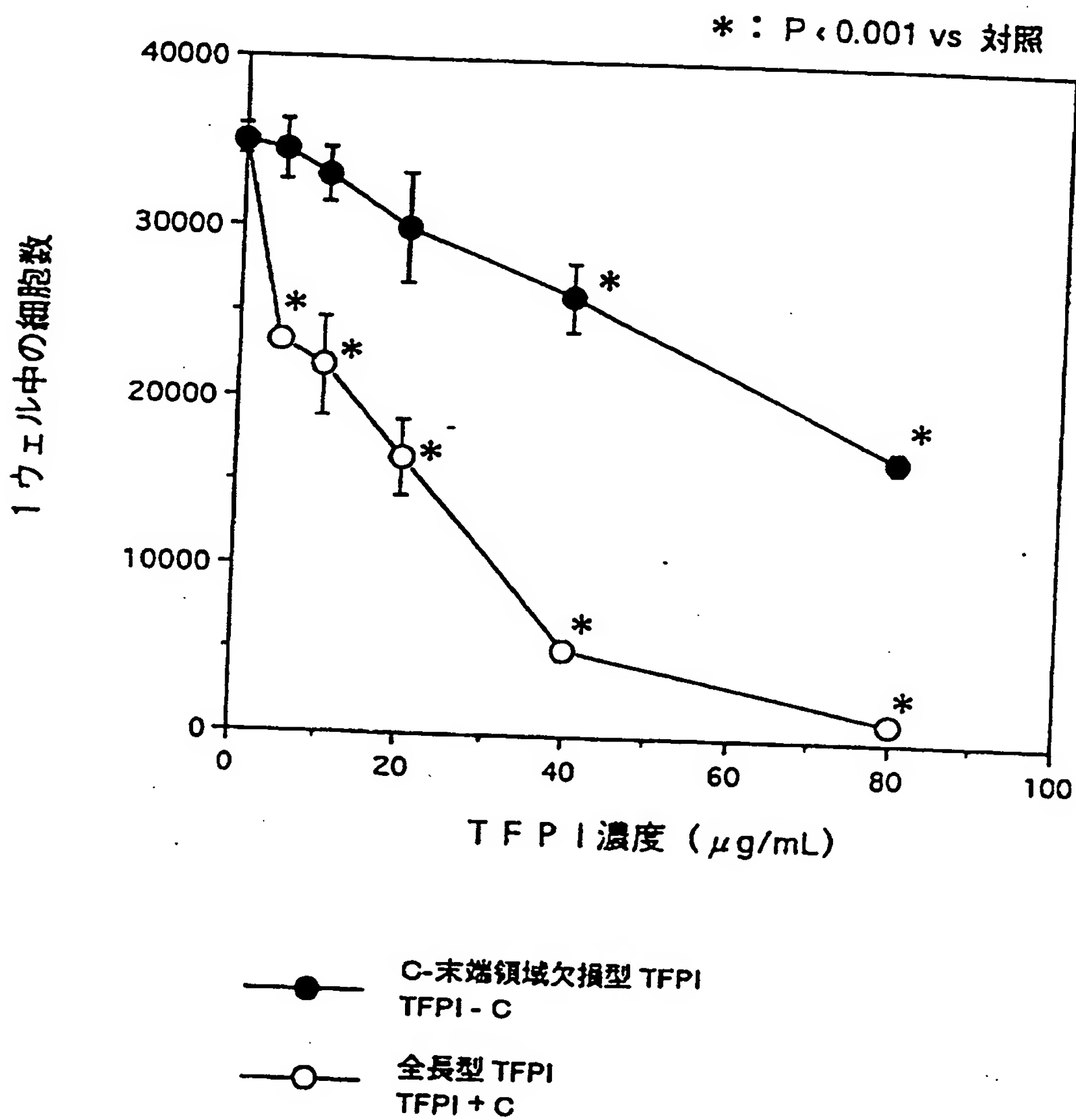
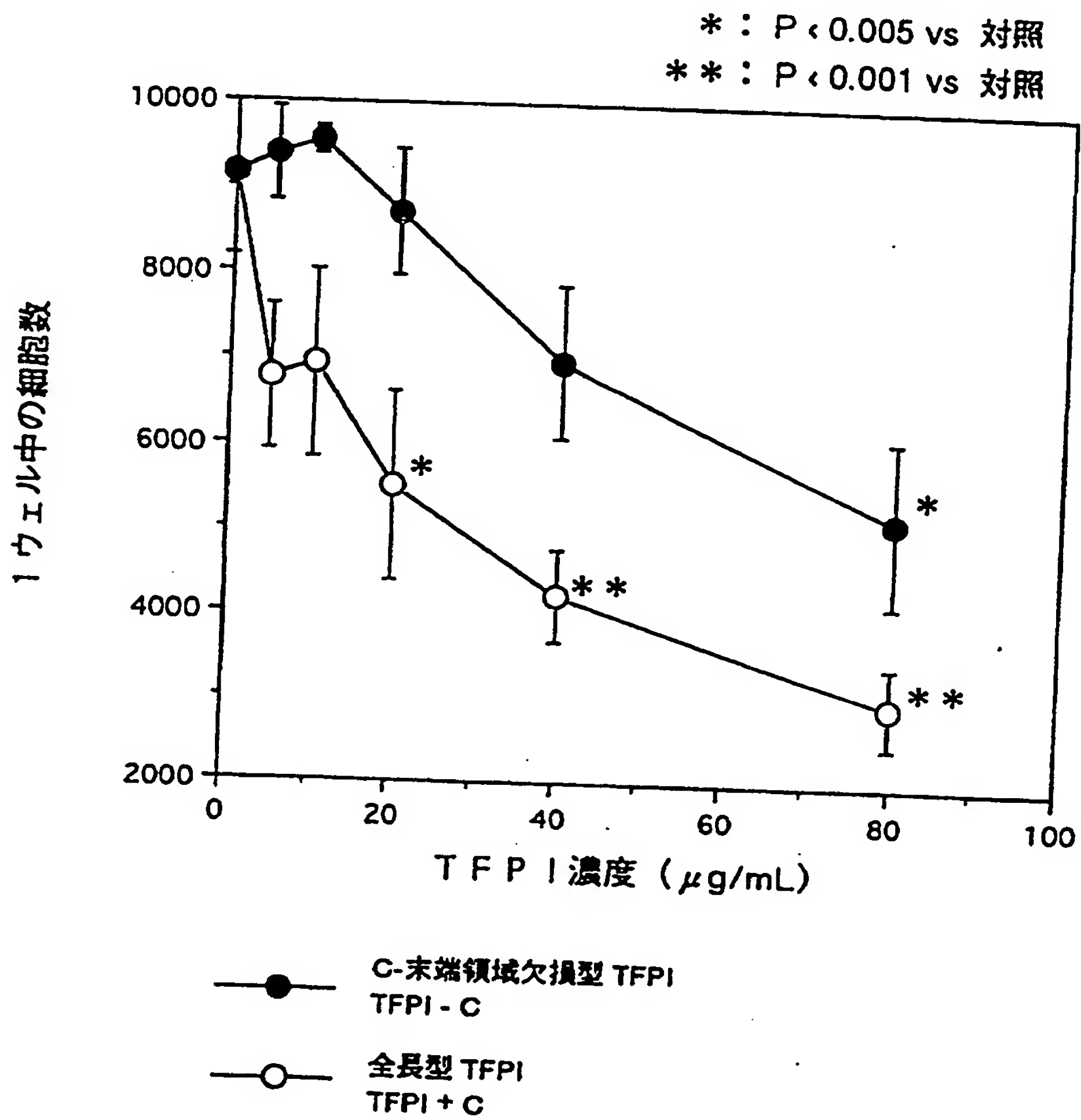


図 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/00973

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. C1⁶ A61K38/55

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. C1⁶ A61K38/55

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAS ONLINE (TISSU FACTOR PATHWAY INHIBITOR, TFPI, ENDOTHELIAL, TUMOR, NECROSIS, NEOPLASM, THROMBOSIS, ARTERIOSCLEROSIS, NEOVASCULAR)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PA	WO, 97/9063, A (Chiron Corp.), March 13, 1997 (13. 03. 97) (Family: none)	1 - 4
A	"Medicine Today" Vol. 49, No. 5 (1994) P. 927-937	1 - 4
PA	"Blood vessel and the endothelium (in Japanese)" Vol. 6, No. 2, (April, 1996) P. 25-35	1 - 4
A	JP, 6-293658, A (Washington University), October 21, 1994 (21. 10. 94) & EP, 563023, A & US, 5276015, A	1 - 4

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
June 4, 1997 (04. 06. 97)

Date of mailing of the international search report
June 17, 1997 (17. 06. 97)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K38/55

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K38/55

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ONLINE (TISSU FACTOR PATHWAY INHIBITOR, TFPI, ENDOTHELIAL, TUMOR, NECROSIS, NEOPLASM, THROMBOSIS, ARTERIOSCLEROSIS, NEOVASCULAR)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PA	WO, 97/9063, A (CHIRON CORPORATION) 13. 3月. 1997 (13. 03. 97), ファミリーなし	1-4
A	「最新医学」Vol. 49, No. 5 (1994) P. 927-937	1-4
PA	「血管と内皮」Vol. 6, No. 2 (1996年4月) P. 25-35	1-4
A	JP, 6-293658, A (ワシントン ユニバーシティー) 21. 10月. 19 94 (21. 10. 94) & EP, 563023, A & US, 5276015, A	1-4

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04. 06. 97

国際調査報告の発送日

17.06.97

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

印

4C

9051

電話番号 03-3581-1101 内線 3453